Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. *E. Bürgi*

—

Die Resorption von Schwefel aus Thiorubrol durch die Haut

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

Vorgelegt von
PETER LIETHA
aus Seewis i/Pr. (Graubünden)

Bern 1942
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. *E. Bürgi*

Die Resorption von Schwefel aus Thiorubrol durch die Haut

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

Vorgelegt von
PETER LIETHA
aus Seewis i/Pr. (Graubünden)

Bern 1942
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. E. Bürgi von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 28. Oktober 1942.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. A. von Muralt.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck
aus der Schweizerischen Medizinischen Wochenschrift
72. Jahrgang 1942, Nr. 24, Seite 650

E. Bürgi hat eine ganze Reihe von Substanzen nach ihrer Durchlässigkeit durch die Haut geprüft und sich dabei eines Apparates bedient, der schon oft beschrieben und abgebildet worden ist, so daß in dieser Arbeit auf seine genauere Schilderung Verzicht geleistet werden kann. Es handelt sich im wesentlichen um ein halbkugeliges Glasgefäß, in das oben zwei Glashähne führen, während es unten an seinem offenen Teile vermittelst eines breiten Randes auf die Haut luftdicht aufgeklebt werden kann. Vermittelst dieses Apparates, der eine gleichzeitige Einatmung flüchtiger Substanzen verhindert, kann die Permeabilität der Haut einwandfrei kontrolliert werden. Das geschah meistens durch Bestimmung der Differenz der zu untersuchenden Substanzmenge in dem Rezipienten vor und nach seiner Applikation auf die Haut. Wenn das, wie das namentlich bei schwefelhaltigen Lösungen aus technischen Gründen zutraf, schwer oder sogar nicht möglich war, wurde die Resorption des Stoffes an seinem Auftreten oder seiner Zunahme im Blute und im Urin bestimmt. Die ersten im medizinisch-chemischen Institute Berns vorgenommenen Experimente bezogen sich auf den Schwefelwasserstoff, dessen perkutane Durchgängigkeit hier zum ersten Male mit Sicherheit nachgewiesen wurde. Festgestellt wurde ferner, daß Salze, die sich in dem H_2S-haltigen Wasser befanden, die Aufnahme des letzteren hemmen, eine Eigenschaft, welche sie auch der Kohlensäure gegenüber besitzen. Bekanntlich werden Schwefelwasserstoff und Polysulfide enthaltende Heilquellen seit Jahrhunderten gegen Gelenkrheumatismus, Furunkulose und andere Krankheiten viel verwendet, und es war von großem Interesse, daß gerade die in solchen natürlichen Wässern vorhandenen H_2S-Konzentrationen besser permeieren als experimentell hergestellte, stärkere, welche

die Haut entzünden und den Durchtritt des Gases dadurch hemmen. Die große Wertschätzung der Schwefelquellen, die namentlich in den letzten Jahrzehnten infolge einer genaueren Begründung ihrer Wirkungen eingetreten ist, hat dann zu einem häufigen Gebrauch von künstlich hergestellten schwefelwasserstoffhaltigen Bädern im Privathause, in Kliniken und öffentlichen Bädern geführt. Meistens wurde für sie Schwefelleber verwendet. Da diese Bäder aber einen unangenehmen Geruch haben, und der Schwefelwasserstoff zudem die meisten Metalle angreift, suchte man nach schwefelhaltigen Substanzen, denen diese nachteiligen Eigenschaften abgingen und die sich dennoch zur Herstellung wirksamer Wässer eigneten. Unter ihnen interessierte uns zunächst das *Thiorubrol*, das von der Wolo A.-G. in Zürich herausgegeben wird.

Thiorubrol hat nach *Kabisch*[1]) folgende chemische Zusammensetzung:

in sulfuriertem Oel gelöster Schwefel	2%
mit freiem Schwefel sulfuriertes Oel	77%
organisches Kalisulfat	20%
Phloxin	1%

Daß der elementare Schwefel, wahrscheinlich in Form des Schwefelwasserstoffes, die Haut penetrieren kann, ist zuerst auf dem med.-chemischen Institute Berns durch *Rieben*[2]) gezeigt worden. Er hat den Schwefel in verschiedenen Oelen gelöst auf die Haut gebracht und die Ausscheidungen schwefelhaltiger Substanzen sowie ihr Vorhandensein im Blute vor und nach den sehr zahlreichen Versuchen bestimmt. Ueber die genaueren Resultate orientiert der betreffende Abschnitt in der Monographie von *E. Bürgi*[3]) über die Permeabilität der Haut für Arzneien und Gifte eingehender. Nach der Auffassung verschiedener Autoren wird der Schwefel zunächst auf der Haut in H_2S umgewandelt (*Sabbatani, Werder, Mancorps*) und dann erst aufgenommen.

Ueber die Frage, ob sich Thiorubrol zur Verwendung in medizinischen Bädern als H_2S-Spender und damit für die Schwefeltherapie der genannten Krankheiten eignet, mußte der Nachweis einer Aufnahme von Schwefel aus seinen wäßrigen Lösungen von der Haut aus entscheidend sein. Ich habe diese Permeabilität mit dem Bürgischen Apparat untersucht und gebe hier zunächst die gewonnenen Resultate wieder.

Die Versuche wurden am Kaninchen ausgeführt. Den Tieren wurde die Bauchseite unter Vermeidung der geringsten Verletzung enthaart. Dann wurden sie in Rückenlage auf ein Brett gebunden und auf die ent-

[1]) *Kabisch:* Moderne Medizin *1913*, 3.
[2]) *Rieben:* Diss. Bern 1938.
[3]) *E. Bürgi:* J. Springer, 1942.

haarte Stelle eine Glasglocke von 6 cm Durchmesser mit warmer Gelatine aufgeklebt und mit Bandagen so fixiert, daß sie durch kontinuierliche Bewegungen des Tieres nicht verschoben werden konnte. Nach dem in 15—30 Minuten erfolgten Erstarren der Gelatine wurde durch den einen Glashahn an der oberen Fläche des Rezipienten die Thiorubrolflüssigkeit eingefüllt, der Hahn geschlossen und sein Ansatz an der Glocke sorgfältig gereinigt. Dem Kaninchen wurde schon vor Beginn des Versuches eine mit einem doppeltgesteuerten Ein- und Ausatmungsventil versehene Gummimaske über den Kopf gestülpt, durch die es vermittelst eines langen Gummischlauches aus dem Freien hergeleitete Luft einatmen mußte. Die Ausatmungsluft wurde durch eine Gaswaschflasche, die natronalkalische Bleiazetatlösung enthielt, geleitet. Schwefelwasserstoff konnte aber in der Exspirationsluft niemals nachgewiesen werden.

Um die Resorption des Schwefels durch die Haut aus der Thiorubrollösung festzustellen, wurde aus der Ohrvene des Versuchstieres vor und nach dem Versuche Blut entnommen, gewogen und der in ihm enthaltene Schwefel durch konz. HNO_3 zu Schwefelsäure oxydiert. Diese wurde durch Bariumchlorid gefällt und als Bariumsulfat gewogen. Ich habe zwei Versuchsserien angestellt. Das eine Mal wurde das Blut samt dem darin enthaltenen Eiweiß mit konz. HNO_3 naß verascht und der Schwefel bestimmt (in Tabelle mit A bezeichnet). In einer zweiten Versuchsserie wurde das Blut mit Trichloressigsäure enteiweißt und im Filtrat der Restschwefel bestimmt (in der nachstehenden Tabelle mit B bezeichnet). Das Blut wurde bei der Entnahme aus der Ohrvene in ein mit einem Glasstöpsel verschließbares Erlenmeyerkölbchen geleitet, das etwas Natriumzitratlösung enthielt, um das Blut zu hämolysieren. Auf diese Weise ging die Veraschung mit Salpetersäure viel rascher vor sich. Die entnommene und gewogene Blutmenge wurde bei den B-Versuchen mit 5 ccm 20%iger Trichloressigsäure versetzt, geschüttelt, vom ausgeschiedenen Eiweiß abfiltriert und im Filtrat die Bestimmung wie oben beschrieben ausgeführt. Bei der Schwefelbestimmung im Urin wurde folgendermaßen verfahren: Das Kaninchen wurde 24 Stunden vor dem Versuch in einen Käfig gesperrt und der 24stündige Urin für die Schwefelbestimmung gesammelt. Der Urin wurde konzentriert, mit Salpetersäure längere Zeit gekocht, filtriert, mit Bariumchlorid versetzt, das ausgeschiedene Bariumsulfat abfiltriert, getrocknet und gewogen. Darauf wurde dem Kaninchen Thiorubrol während 2—2½ Stunden in der Glasglocke auf die Bauchhaut appliziert. Nach dem Versuch wurde das Kaninchen wiederum 24 Stunden in den Käfig gebracht und im gesammelten Urin der Schwefel nochmals bestimmt.

In einer weiteren Versuchsserie wurde die Schwefelabnahme in der Glasglocke nach dem Versuch auf folgende Weise bestimmt: Das Thiorubrol wurde in der Verdünnung 1 : 5 und 1 : 10 in die Glasglocke eingefüllt, davon wurden 5 ccm herauspipettiert, mit etwas Wasser verdünnt, mit überschüssiger natronalkalischer Bleiazetatlösung längere Zeit zum Sieden erhitzt, wodurch der organisch gebundene Schwefel (Sulfidschwefel) sich mit dem Blei zu unlöslichem, schwarzem Bleisulfid verbindet. Dies wurde abfiltriert, der Niederschlag mit verdünnter Essigsäure ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Nach dem Versuch wurde der Schwefel nochmals in gleicher Weise bestimmt, und aus der Differenz die Schwefelabnahme errechnet.

Von den Versuchen gebe ich nur einige etwas genauer an und lasse dann meine sämtlichen Ergebnisse in Form einer tabellarischen Uebersicht folgen.

1. Versuch. A. vor der Applikation:

Kaninchengewicht: 2830 g
Verwendete Blutmenge: 1,59 g
Gefunden: 0,0040 g $BaSO_4$
Daraus: 0,00055 g S.
Blutschwefelgehalt: *34,3 mg%*

2. Versuch. A. nach Thiorubrol:

Kaninchengewicht: 2830 g
Zeit: 2 Stunden
Thiorubrolverdünnung: 1 : 5
Glasglockendurchmesser 6/16 cm
Verwendete Blutmenge: 2,26 g
Gefunden: 0,0096 g $BaSO_4$
Daraus: 0,0013 g S.
Blutschwefelgehalt: *58,4 mg%*

3. Versuch. A. vor der Applikation (nach 24 Stunden):

Kaninchengewicht: 2830 g
Verwendete Blutmenge: 1,41 g
Gefunden: 0,0040 $BaSO_4$
Daraus: 0,00055 g S.
Blutschwefelgehalt: *38,7 mg%*

5. Versuch. A. nach Thiorubrol:

Kaninchengewicht: 2340 g
Zeit: 2 Stunden
Thiorubrolverdünnung 1 : 10
Glasglockendurchmesser: 6 cm
Verwendete Blutmenge: 0,981 g
Gefunden: 0,0032 g $BaSO_4$
Daraus: 0,0004 g S.
Blutschwefelgehalt: *44,7 mg%*

6. Versuch. A. vor der Applikation:

Kaninchengewicht: 2010 g
Verwendete Blutmenge: 2,00 g
Gefunden: 0,0084 g $BaSO_4$
Daraus: 0,00115 g S.
Blutschwefelgehalt: *57,5 mg%*

7. Versuch. A. nach Thiorubrol:

Kaninchengewicht: 2010 g
Zeit: 2 Stunden
Thiorubrolverdünnung 1 : 10
Glasglockendurchmesser: 6 cm
Verwendete Blutmenge: 1,81 g
Gefunden: 0,0104 $BaSO_4$
Daraus: 0,00143 g S.
Blutschwefelgehalt: *62,0 mg%*

24. Versuch. B. vor der Applikation:

Kaninchengewicht: 2035 g
Verwendete Blutmenge: 0,98 g
Gefunden: 0,0002 g $BaSO_4$
Daraus: 0,000027 g S.
Blutschwefelgehalt: *2,79 mg%*

25. Versuch. B. nach Thiorubrol:

Kaninchengewicht: 2035 g
Zeit: 2 Stunden
Thiorubrolverdünnung 1 : 10
Glasglockendurchmesser: 6 cm
Verwendete Blutmenge: 1,58 g
Gefunden: 0,0012 g $BaSO_4$
Daraus: 0,00016 g S.
Blutschwefelgehalt: *10,4 mg%*

Bestimmung der Schwefelabnahme in der Glasglocke

S-Bestimmung im Thiorubrol *vor* dem Versuch		S-Bestimmung im Thiorubrol *nach* dem Versuch	
1 : 5	1 : 10	1 : 5	1 : 10
6,30 mg		4,01 mg	
	1,35 mg		0,58 mg
	6,20 mg		1,90 mg

Schwefelbestimmung im Urin

Vor dem Versuch		*Nach* dem Versuch	
		1 : 1	1 : 10
12,60 mg		26,85 mg	
	26,85 mg		62,72 mg
	42,66 mg		67,32 mg

Tabelle 1

Es bedeuten: A = Versuche mit nicht enteiweißtem Blut. B = Versuche mit enteiweißtem Blut. V-Index bedeutet Leerversuch (Blutentnahme vor Applikation des Thiorubrols). S-Index bedeutet Schwefelbestimmung nach Applikation des Thiorubrols.

Kaninchen Gewicht	A. ohne Thiorubrol	*A.* mit Thiorubrol 1 : 5	1 : 10	B. ohne Thiorubrol	*B.* mit Thiorubrol 1 : 1	1 : 10
2830 g	24,3 mg%					
2830 g		58,4 mg% 96 cm² 2¼ Std. Appl. Dauer				
2830 g	38,7 mg% nach 24 Std.					
2340 g	43,3 mg%					
2340 g			44,7 mg% 28 cm² 2 Std.			
2010 g	57,5 mg%		28 cm²			
2010 g			62,0 mg% 2¼ Std. Appl. Dauer			
2830 g				9,83 mg%		
2830 g					17,2 mg% 96 cm² 3 Std.	
2270 g				9,65 mg%		
2270 g					24,5 mg% 34,2 cm² 2 Std.	
2130 g				5,24 mg%	8,01 mg% 34,2 cm² 2¼ Std.	n. 4 Tagen
2130 g					23,0 mg% 28 cm² 2½ Std.	
2165 g				<1,00 mg%		
2165 g					7,2 mg% 28 cm² 2½ Std.	
2035 g				2,90 mg%		
2035 g						8,51 mg% 28 cm² 2½ Std.
2035 g				2,79 mg%		10,4 mg% 28 cm² 2 Std.

Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß nach Applikation von Thiorubrol auf die Haut des Kaninchens der Schwefelgehalt im Blute nach 2—2½ Stunden deutlich gestiegen ist, und zwar im enteiweißten Blute bei Verwendung der kleinsten Glasglocke (28 cm^2) um 5—6 mg, bei Verwendung der größeren Glocke etwas mehr. Ferner ist ersichtlich, daß bei Verwendung einer verdünnteren Thiorubrol-Lösung (1 : 10) die Zunahme geringer ist als bei der konzentrierteren (1 : 1). Die Zunahme scheint bei den A-Versuchen unter Berücksichtigung, daß gleiche Gefäße benutzt wurden (vgl. Versuche 6 u. 7) ungefähr gleich zu sein wie bei den B-Versuchen (vgl. Versuche 15, 16, 17, 18, 19, 20).

Es kann daraus geschlossen werden, daß der aufgenommene Schwefel nicht in die Eiweißkomponente des Blutes übergeht, sondern in die nicht durch Trichloressigsäure fällbare Fraktion. Wir haben daher untersucht, ob evtl. eine Zunahme von schwefelhaltigen Verbindungen in dieser Fraktion festzustellen sei und haben zu diesem Zwecke eine Prüfung auf Zystin und Glutathion nach *Fujita* und *Numata* (Biochem. Z. *300*, 257 [1938/39]) vorgenommen. Die Prüfung geschah durch vergleichende Kolorimetrierung der beiden Schwefelverbindungen, nach deren Isolierung und Zugabe von Nitroprussidnatrium, wobei eine karminrote Färbung entsteht. Es zeigte sich also, daß nach 2½stündiger Einwirkung des Thiorubrols auf die Haut des Kaninchens der Zystin-Glutathion-Gehalt im Blut angestiegen war, etwa im Verhältnis von 1 : 1,6. Dieser eine Versuch kann allerdings noch nicht maßgebend sein, sondern es sind noch Parallelversuche nötig, um dieses Resultat sicherzustellen.

Aus diesen Versuchen geht mithin mit Sicherheit hervor, daß aus wäßrigen Thiorubrollösungen Schwefel durch die Haut geht. Wir haben allerdings mit relativ konzentrierten Lösungen arbeiten müssen, die sich mit den für Heilbäder verwendeten Konzentrationen nicht direkt vergleichen lassen. Daß die Aufnahme mit der Verdünnung abnimmt, ist a priori klar und zudem durch unsere eigenen Ergebnisse bewiesen. Andererseits ist aber zu bemerken, daß wir an kleinen Tieren und zudem nur unter Benutzung einer geringen Resorptionsfläche auf der Bauchhaut und schon aus diesem Grunde mit höheren Konzentrationen arbeiten mußten. Der mit Thiorubrolbädern behandelte Mensch besitzt eine ungleich größere resorbierende Oberfläche und nimmt dementsprechend aus verdünnten Lösungen bedeutend mehr auf. Die therapeutisch optimale Schwefelmenge ist unbekannt. Sicher steht nur, daß auch sehr geringe Quantitäten wirksam sind. Die Brauchbarkeit von Thiorubrol für die Behandlung der einer Schwefelwirkung zugänglichen Leiden kann durch unsere Versuche jedenfalls als bewiesen gelten.

Printed in Switzerland